

NEUROINFLAMMÁCIÓS MECHANIZMUSOK VIZSGÁLATA STRESSZ-OKOZTA FÁJDALOM EGÉRMODELLJÉBEN

Doktori (PhD) – értekezés tézisei

Dr. Fülöp Barbara



Gyógyszertudományok Doktori Iskola,
Neurofarmakológia program
Doktori iskola és programvezető: Prof. Dr. Pintér Erika

Témavezetők:

Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna

Dr. Borbély Éva

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs, 2025.

1. ÁLTALÁNOS BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS, KUTATÁSI KONCEPCIÓ

1.1 Krónikus primér fájdalom és a nociplasztikus fájdalom

A krónikus primér fájdalom betegségek az egészségügyi világszervezet által közzétett definíció szerint olyan fájdalomállapotok, amelyek több mint három hónapon át tartanak, és nem magyarázhatók szöveti vagy idegi károsodással (1–3). Ezen betegségek közé tartozik például a fibromyalgia (FM) és a komplex regionális fájdalom szindróma (CRPS).

A krónikus primér fájdalom az ún. nociplasztikus fájdalom csoportjába sorolható, amelyben a fájdalom hátterében centrális idegrendszeri feldolgozási zavarok állnak. Ez, a harmadik fájdalom entitás elkülönül a klasszikus nociceptív (szöveti sérülés miatt érzett) és neuropátiás (idegsérüléshez kapcsolódó) fájdalomtípusoktól (4).

1.2. A kónikus stressz és a fájdalom kapcsolatrendszere

A tartós pszichoszociális stressz és a krónikus primér fájdalom szorosan összefonódó, egymást súlyosbító állapotok (5). A limbikus rendszer (hippokampusz, amygdala, prefrontális kéreg) stressz hatására mutatott plaszticitási változásai hozzájárulhatnak a centrális szenzitizáció kialakulásához, amikor a fájdalom függetlenedik a kiinduló ingertől, és krónikussá válhat (6–8). Ezzel párhuzamosan a hipotalamusz–hipofízis–mellékvese (HPA) tengely diszregulációja is jelentős szerepet játszik mind a fájdalom, mind a gyakori pszichés komorbiditások (szorongás, depresszió, alvászavar) fenntartásában, és súlyosbodásában (9).

Dolgozatomban a FM mechanizmusú, krónikus stressz-indukált fájdalom egérmodelljében született preklinikai kutatási eredményeinket ismertetem.

1.3. A fibromyalgia (FM) klinikai jellemzői és kezelése

Az FM legalább három hónapja fennálló, testszerte jelentkező, spontán muszkulo-szkeletális fájdalommal járó kórkép, amelyhez gyakran társul alvászavar, kognitív hanyatlás, kimerültség és szorongás. A betegek jellemzően fokozott fájdalomérzékenységet mutatnak (allodínia, hiperalgízia), továbbá gyakran tapasztalnak hideg intoleranciát is (10). A diagnózis felállítása jelenleg az Amerikai Reumatológusok Társasága által kiadott diagnosztikai kritérium rendszer alapján történik, ami figyelembe veszi a tünetek kiterjedtségét a fájdalmas területek feltérképezésével, valamint a panaszok súlyosságát is (11).

A kezelési stratégia multidiszciplináris megközelítést igényel: a fizioterápia és a pszichés vezetés is komoly szerepet kap a betegség terápiájában (12,13). A klasszikus fájdalomcsillapító gyógyszerek, a nem szteroid gyulladáscsökkentők, valamint opioid szerek nem effektívek az FM-es betegek fájdalmának csillapításában. Az elsővonalban alkalmazott adjuváns

analgetikumok – elsősorban antidepresszánsok (duloxetin, amitriptilin) és antiepileptikumok (pregabalin, gabapentin) – „A” szintű, erős evidenciával rendelkeznek az FM betegség kezelésében (14,15). Azonban ezen gyógyszerek hatásának kialakuláshoz sokszor huzamosabb időre van szükség, amit limitál a számos megjelenő mellékhatás, ami korlátozza alkalmazhatóságukat (16).

1.4. FM etiológiája

Az FM hátterében a fájdalom helyén nem mutatható ki lokális szervi, szöveti elváltozás, de újabb kutatások a centrális fájdalommoduláció zavarára és neuroinflammatorikus folyamatok fontosságára mutatnak rá. Képző eljárások (PET CT, fMRI) során FM-es betegek agyában fokozott gliasejt-aktivációt figyeltek meg a fájdalom feldolgozásáért felelős agyterületeken (17,18).

1.5. Neuroinflammáció

A neuroinflammáció a központi idegrendszer immunválaszát jelenti, különböző károsító ingerekre (pl. fertőzés, trauma, neurodegeneráció vagy pszichoszociális stressz). E folyamat kulcsszereplői elsősorban a mikroglia és az asztrocita sejtek, melyek aktivációjuk során többek között gyulladásos mediátorokat, citokineket, kemokineket, reaktív oxigén- és nitrogéngyököket szabadítanak fel. Ezek az anyagok kezdetben védő szerepet töltenek be, például elősegítik a károsodott sejtek eliminációját vagy a regenerációs folyamatokat, azonban túlzott aktiváció, vagy hosszú távú hatás esetén neurotoxikussá válhatnak, és hozzájárulhatnak a neuronok működészavarához, esetleg pusztulásához is. A neuroinflammáció tehát egy kettős természetű folyamat, melyben az immunválasz védő és károsító mechanizmusai finom egyensúlyban működnek (19,20).

1.6. Fraktalkin receptor (CX3CR1)

A neuroinflammáció folyamataiban a számos jelátviteli út közül fontos szerepet kap a neuronokat ért sérülés hatására a sejt által termelt fraktalkin (FKN) nevű fehérje, mely kemoattraktánsként vonzza az immunsejteket a sérülés helyére. A FKN a periférián T-sejteken, monocytaikon, a központi idegrendszerben pedig főként a mikroglia sejteken található specifikus receptorhoz, a fraktalkin receptorhoz (C-X3-C kemokin receptor 1 - CX3CR1) kötődve éri el a sejtek aktiválódását (21). A „veszély” jelzést (pl.: sejtkárosodás, oxidatív stressz) mikroglia sejt, például a NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammaszóma segítségével, többek között az interleukin-1 (IL-1) pro-inflammatorikus citokin elválasztása révén továbbítja a környező sejtek számára (22,23).

Irodalmi adatok azt mutatják, hogy a receptor aktiválódása szerepet játszik hangulatzavarokban, a stresszválasz valamint a neuropátiás és gyulladásos fájdalom kialakításában is, továbbá szerepe van a centrális fájdalom szenzitizáció kialakulásában (24–26). A receptor által befolyásolt glia-neuron interakció a pszichoszomatikus betegségek kialakulásában fontos szerepet tölt be. Noha FM betegek vérében magasabb FKN koncentrációt mértek (27), korlátozott számú adat áll rendelkezésünkre a CX3CR1 receptor szerepéről fibromyalgia betegségben.

1.7. NLRP3 inflammaszóma

Az inflammaszómák olyan multiprotein-komplexek, amelyek a veleszületett immunrendszer részeként kulcsszerepet játszanak a gyulladásos folyamatok szabályozásában. Ezek az intracelluláris szenzorfehérjék különféle kórokozók vagy sejtkárosodás hatására aktiválódnak, és gyulladásos citokinek érését és felszabadulását közvetítik (28).

Az NLRP3 inflammaszóma felelős az IL-1 β - és a IL-18- termeléséért. Az IL-1 β az egyik kulcsfontosságú gyulladásos mediátor, amely szoros kapcsolatban áll a neuroinflammációs folyamatokkal (29).

1.8. Interleukin-1

A citokinek sejtek közötti kommunikációt létrehozó, kis molekulatömegű (10–40 kDa-os) glikoproteinek. Sokrétű, sejtekre és immunfolyamatokra gyakorolt hatásait a sejtek membránjában elhelyezkedő citokin receptorokhoz kötődve fejtik ki, a sejten belüli jelátviteli kaszkád elindításával.

Kutatásaink az IL-1 szupercsaládon belül az IL-1 α és IL-1 β citokinekre fókuszálnak (IL-1), a legátfogóbban kutatott proinflammatorikus citokinekre a családból, hiszen ezek a citokinek a gyulladásos válasz kulcsszereplői, és elsődleges mediátorai számos kórfolyamatnak (30,31). A központi idegrendszerben főként mikroglia sejtek által termelt IL-1 az IL-1 sejtfelszíni receptoron (IL-1R) keresztül számos sejt (NK, T és B sejtek, asztrociták) aktivációjához vezet, illetve a neuronokon is megtalálható receptorával számos helyre el tudja juttatni a proinflammatorikus szignált. Ezen felül, autokrin módon, további mikroglia és asztrocita sejtek aktivációját közvetíti, illetve, a neuroinflammáció kialakításában is elengedhetetlen (30,31).

Mind akut, mind kónikus stresszreakciókban bizonyítottak már az IL-1 szint emelkedését szintjét egészséges önkéntesekéhez képest (32). Az IL-1-et már összefüggésbe hozták a depresszió kialakulásával is, azonban FM-es betegek plazmájában eddig nem tudták egyértelműen kimutatni az IL-1 szintjének változását (33).

1.9. Hemokinin-1

A neuroinflammáció kialakulásában nemcsak a glia- és immunsejtek, hanem a neuronok által felszabadított neuropeptidok is kulcsszerepet játszanak. A tachykininek, az egyik legrégebb óta kutatott neuropeptid család tagjai: a P anyag (Substance P, SP), a neurokinin A és B, valamint a legújabbként leírt hemokinin-1 (HK-1), amely főként az nekurokinin-1 (NK1) receptoron keresztül hat (34). Az SP–NK1 rendszer szerepe ismert a fájdalom feldolgozásában, és bár állatkísérletekben az NK1 antagonisták hatékonyak voltak neuropátias fájdalomak csillapítására, klinikai vizsgálatokban nem bizonyultak eredményesnek (35,36). A HK-1 esetében a közvetített hatások nem kizárólag az NK1 receptorhoz köthetők, ami arra utal, hogy más, még nem azonosított struktúrák is közre játszhatnak a kialakulásukban. A HK-1 expressziója több szövetben (agy, légutak, máj, vese, uterusz) kimutatható, és gyulladásos, illetve immunválasz folyamatokban is szerepet játszik (37,38). Mikroglia aktiváció során szintje emelkedik, HK-1 hiányos egerekben pedig traumás mononeuropátia modelljében kisebb fájdalmat és a trauma-okozta mikroglia-aktiváció elmaradását figyelték meg (39). Fibromyalgiás betegekben magasabb HK-1 szintet írtak le, ami jelzi lehetséges kóroki jelentőségét (40). Összességében a HK-1 a gyulladás, fájdalom és immunmoduláció fontos szabályozója, de fibromyalgiában betöltött szerepe még nem tisztázott.

1.10. FM modellezése egerekben

A humán FM modellezésére számos egérmodell található az irodalomban, melyek közül a krónikus immobilizációs stressz (CRS) modell jól tükrözi az FM-re jellemző tünetegyüttest. CRS során a hosszan fennálló, nem invazív stresszhatás mechanikai és hideg hiperalgéziát, valamint neuroinflammációs változásokat idéz elő.

Az intézetünkben jelenleg is folyó, CRS modell jellemzését célzó kísérletek alapján a modell farmakológiai validálása során azt tapasztaltuk, hogy az FM-es betegek fájdalmára hatástalan klasszikus fájdalomcsillapítók (pl. diklofenák, tramadol) ebben a modellben sem csillapították szignifikánsan az állatok stressz-által kiváltott fájdalmát, azonban a „A” evidenciaszintű adjuváns szerek (duloxetin, gabapentin) azonban hatékonyak voltak. Eredményeink tovább erősíti a CRS modell transzlációs értékét, valamint az intézetünk több évnyi tapasztalattal rendelkezik ezen, jól reprodukálható modellel, ezért esett a választásunk erre a protokollra.

2. CÉLKITŰZÉSEK

PhD munkám során krónikus stressz-okozta fájdalom központi idegrendszeri neuroinflammációs mechanizmusait vizsgáltam, melyben a mikroglia sejt felszínén található CX3CR1 fraktalkin receptor, a gliasejtben található NLRP3 inflammaszóma és az abban

képződő IL-1 pro-inflammatorikus citokin, valamint a Tac4 gén által kódolt HK-1 is részt vesz. Kísérletsorozatunk célja e kulcselemek szerepének a vizsgálata volt krónikus immobilizációs stressz-indukált fájdalom egérmmodelljében génhíányos egerek és farmakológiai eszközök segítségével. Mivel a FM nőkben gyakrabban fordul elő, kísérleteinkben kiemelt figyelmet fordítottunk a nemi különbségek esetleges szerepének vizsgálatára is.

3. KÍSÉRLETI MODELLEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

3.1. Állatok

Vizsgálatainkhoz 12-16 hetes hím és nőstény C57Bl/6J (vad típusú-WT), valamint IL-1 $\alpha\beta$ génhíányos (IL-1 KO), CX3CR1 receptor génhíányos (CX3CR1 KO) és Tac4 génhíányos (Tac4 KO) hím és nőstény egereket használtunk. Az állatokat a Pécsi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének Laborállatházában tenyésztettük és tartottuk. Környezetgazdagításnak a ketrecekben az állatok számára biztonságot és bűvőhelyet biztosító polikarbonát házikókat helyeztünk el.

3.2. Krónikus immobilizációs stressz (chronic restraint stress- CRS):

A krónikus stressz által kiváltott fájdalom modelljének kialakítására a stresszelni kívánt csoportot naponta 6 órára az állatok mozgását nagymértékben korlátozó, azonban jól ventiláló csőbe helyezzük, két, vagy négy héten keresztül (41).

3.3. Kísérleti elrendezés

Az alap fájdalomküszöb mérések egy héttel a stressz alkalmazása előtt végeztük. Minden állat alap nociceptív küszöbértékének mérésére az elvégzett tesztet (mechanikai és hideg tolerancia – lásd 3.5 pont) három alkalommal végeztünk el, nem egymást követő napokon. Ezután az eredményeket átlagoltuk, és „kiindulási” értéként rögzítettük. A kéthetes, valamint a négy hetes CRS alatt a nociceptív teszteket hetente egy alkalommal mértük. Ezzel szemben viselkedésvizsgálatokat egy alkalommal, a stressz protokoll utolsó (második/negyedik) hete folyamán végeztünk.

Minden vizsgálat délután, az immobilizációt követően legalább 2 órával kezdődött. A kísérletet végző személy nem ismerte az állatok csoportbeosztását, valamint gyógyszeres kezelési protokoll esetén a kapott kezelést. A stresszprotokoll végén az állatokat perfúziója történik, majd a szövettani minták processzálása.

3.4. Vizsgált vegyületek

A CX3CR1, az NLRP3, valamint az IL-1 krónikus stressz által kiváltott fájdalomban való szerepét a molekulák farmakológiai blokkolásával, receptor antagonistá hatóanyagok adásával

is teszteltük. A fent ismertetett CRS kísérleti protokoll alkalmazása mellett a CX3CR1 antagonistáját, az AZD8797 gyógyszerjelöltet (1 mg/kg, napi 2X (42)), az NLRP3 inflammaszómát blokkoló MCC950-t (10 mg/kg, napi 1X (43)), valamint az IL-1 receptor antagonistát, már forgalomban lévő, anakinrát (10 mg/kg, napi 1X (44)) is teszteltük a modellben, mely kezeléseket a CRS két hete alatt naponta intraperitoneális injekció formájában adagoltunk.

3.5. Nocicepció vizsgálata

3.5.1. Mechanonociceptív küszöb mérése

Az egerek mechanikai fájdalomküszöbét dinamikus plantáris eszteziométerrel (DPA) határoztuk meg. Az állatokat műanyag rekeszekbe helyeztük, és 10 perc kondicionálás után a talp közepére fokozatosan növekvő nyomást gyakoroltunk tompa végű tűvel (max. 10 g, 4 másodperc alatt). A fájdalomreakció (láb elrántása, rázás, nyalogatás) esetén a nyomásmérő leállt, és az értéket grammban rögzítettük. Minden lábon három mérést végeztünk, az átlagot fájdalomküszöbnek tekintettük. A CRS alatt mért értékeket a kiindulási küszöb százalékos változásaként elemeztük (45).

3.5.2. Hideg tolerancia teszt

A hideg fájdalomküszöböt lábkihúzási latencia méréssel határoztuk meg. Az egér egyik hátsó lábát közel 0 °C-os, jégdarát is tartalmazó vízbe mártottuk úgy, hogy a végtag ne érintkezzen közvetlenül a jéggel. A maximális mérési idő 180 másodperc volt. A fájdalomreakció (láb kihúzása) esetén a mérést leállítottuk, és a reakcióidőt másodpercben regisztráltuk. A változásokat a kiindulási értékhez viszonyítva adtuk meg (46).

3.6. Viselkedés vizsgálatok

3.6.1. Kényszerített úszás teszt (Forced Swim Test, FST)

Az FST a depresszió-szerű viselkedés vizsgálatára használt teszt, melyben az egereket 22-24 °C csapvízzel 17 centiméter magasan megtöltött, átlátszó műanyag hengerbe helyezzük. A vizsgálat 6 percig tart, melynek az utolsó 4 percében mérjük az immobilitással eltöltött időt, mely egyenesen arányos a megküzdés hiányával, depresszió-szerű viselkedésként interpretálható (47).

3.6.2. Sötét-világos doboz (Light-Dark Box, LDB)

A szorongás szintjének mérésére használt teszt. Egy világos és egy sötét félből álló dobozban az egerek szabadon mozoghatnak a két térfél között. Az 5 perces vizsgálat alatt a világosban töltött idő fordított arányban áll a szorongás mértékével, a rögzített kamera felvételeken ezt a paramétert vizsgáltuk (48).

3.6.3. Nyílt terep teszt (Open Field Test: OFT)

Az egerek spontán lokomotoros aktivitását és szorongásszerű viselkedését mérjük egy 48×48×55 cm-es megvilágított arénában. Az 5 perces tesztet kamerarendszer rögzíti, az EthoVision® XT szoftverrel elemeztük ki a felvételeket (49).

3.7. Perfúzió, mintavétel

A vizsgálati idő 2 vagy 4 hetének leteltét, a viselkedés tesztek elvégzését követően az egereket ketamin (100 mg/kg i.p.) és xylazin (10 mg/kg i.m.) kombinációjával túlaltattuk, majd megnyitottuk a mellkas üregét és az állatokat transzkardiálisan perfundáltuk: először 0,1 M foszfátpufferolt sóoldattal (PBS, pH: 7,4), majd 4%-os paraformaldehid (PFA) oldattal Millonig pufferben (pH: 7,4).

3.8. Az agyszövet feldolgozása

Egynapos 4%-os PFA utófixálását követően minden csoportból hat véletlenszerűen kiválasztott egér agyát 30 µm vastag koronális szeletekre vágtuk Vibratome-mal (Leica VT1000 S, Leica Biosystems, Richmond, IL, USA).

3.9. Hagyományos avidin–biotin immunperoxidáz immunohisztokémia

3.9.1. Ionizált kalciumkötő adaptor molekula-1 (IBA1)

A mikoglia marker IBA1 immunreaktivitást (n = 6/csoport) hagyományos avidin–biotin immunperoxidáz protokollal vizsgáltuk. Az előkészítő, valamint blokkoló lépéseket követően PBS-ben hígított, 2% normál kecskeszérum és nyúl anti-IBA1 primer antitest (019-19741, Wako Chemicals GmbH, Neuss, Németország, 1:10.000 hígításban) majd ezt követően 1,5% biotinilált kecske, anti-nyúl IgG (Vector Labs) oldatban inkubáltuk, és avidin–biotin komplex inkubációt követően a reakciót 3,3-diaminobenzidinnel (DAB, Sigma, St. Louis, MO, USA), 0,003% H₂O₂-vel tettük láthatóvá (50).

3.9.2 Gliális fibrilláris savas fehérje (GFAP)

Az asztrocita marker GFAP immunreaktivitást (n=5–7/csoport) szintén hagyományos avidin–biotin immunperoxidáz protokollal megfestett metszeteken vizsgáltuk. A részletes protokoll lépései megegyeznek az IBA1 immunjelölésével, a két festésben alkalmazott eltérő oldatok a

következők: a GFAP immunfestés esetében a nem specifikus kötődési helyeket 2% normál ló szérummal (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) blokkoltuk PBS-ben, és 2% normál ló szérummal, PBS-ben hígított egér monoklonális anti-GFAP primer ellenanyagot (NCLLGFAP-GA5, Novocastra, 1:1000 hígításban) alkalmaztunk. Másodlagos ellenanyagként 1,5% biotinilált anti-egér IgG-t használtunk (Vector Labs). Az IBA1 festéshez hasonlóan a jelet DAB-al tettük láthatóvá (51).

3.9.3 Immunhisztokémiai adatelemzés – IBA1, GFAP

A metszetekből Olympus IX81 mikroszkóppal és a hozzá kapcsolt Olympus DP74 digitális kamerával 10X objektívul készült képeken az integrált denzitást (az ImageJ program beépített pluginja segítségével), sejtszám és aktivációs mérések (fehérjék relatív mennyiségét és a sejteken látható morfológiai változásokat 1-től [nyugalmi állapot] 5-ig [teljes aktiváció] terjedő skálán mérő vizsgálat) kvantitatív elemzését az ImageJ 1.48 szoftverrel végeztük, a vizsgált stressz és fájdalom processzálásában résztvevő agyterületeken (51). Négy fájdalommal és stressz processzálásával összefüggésbe hozható agyterületet vizsgáltunk:

- elsődleges szomatoszenzoros kéreg – hátsó láb reprezentációs régiója (S1HL, kb.-0,46–-0,7 mm a bregma mögött)
- periakveduktális szürkeállomány (PAG, kb. -7,3–8,3 mm a bregma mögött),
- hippocampusz cornu ammonis 3-as terület (CA3, kb. -2,18–2,46 mm a bregma mögött),
- centrális amygdala (CeA, kb. -1,82–2,06 mm a bregma mögött).

3.10. Immunfluoreszcens festés

Az S1HL területén készült metszeteken immunfluoreszcens festést is végeztünk a mikroglia és a kortikális neuronok kölcsönhatásainak (n=5/csoport) vizsgálatára a hím állatokban. A előkészítő, valamint blokkoló lépéseket követően PBS-ben hígított, 3% normál kecskeszérum és nyúl anti-IBA1 primer antitest (019-19741, Wako Chemicals GmbH, Neuss, Németország, 1:10 000 hígítás), Kv2.1 primer antitest (75-014, NeuroMab, Antibodies Incorporated, Davis, CA, USA 1:1000 hígítás) tartalmú oldatban inkubáltuk, majd Alexa 647-es kecske anti-nyúl IgG-vel (A32733, Invitrogen Antibodies, 1:500 hígításban) és Alexa 568-as kecske anti-egér IgG-vel (A11031, Invitrogen Antibodies, 1:500 hígításban) és 4',6-diamino-2-fenilindollal (DAPI) festés történt a sejtmagok jelölésére (52).

3.10.1 Immunhisztokémiai adatelemzés – IBA, Kv2.1 és DAPI

A konfokális képeket Nikon Eclipse Ti2-E típusú konfokális mikroszkóppal készítettük, 60x-os objektívvel. A képekből Z-sorozatot (1024 x 1024 képpont felbontással) rögzítettünk.

Vizsgáltuk a szomatikus mikroglia kapcsolódásokat, vagyis a mikroglia nyúlványok és a kortikális piramisneuronok perikaryonjai közötti közvetlen érintkezési felszínt, a korábbi leírások alapján (52). Elemeztük a mikroglia-neuron kapcsolatok arányát és azok felszínének nagyságát. A vizsgált neuronokat három csoportba soroltuk:

- szatellita mikroglia (melyek sejtteste érintkezett a neuron perikaryonjával),
- mikroglia nyúlványok, melyek kapcsolatban álltak a neuronokkal,
- valamint mikroglia sejtek, amelyek nem érintkeztek neuronokkal.

3.11. Etikai engedélyek

A használt vizsgálati módszerek és eljárások minden tekintetben megfelelnek az állatkísérletek végzéséről szóló 1998. évi XXVIII. számú törvény előírásainak, valamint az Európai Parlament irányelveinek (2010/63). A PTE állatkísérletekkel foglalkozó Etikai Bizottsága a kísérleti protokollokat jóváhagyta (Engedélyszámok: BA02/2000-40/2016 és BA02/2000-25/2023).

3.12. Statisztikai módszerek

A kiindulási adatokat független mintás t-próbával hasonlítottuk össze.

Az ismételt méréssel járó vizsgálatok statisztikai értékelése a normál eloszlást mutató adatok esetében kétutas ismételt mérés varianciaanalízissel (Two-way RM ANOVA), valamint Sidak-féle post hoc teszttel értékeltük ki. A stressz, valamint a genotípus befolyásoló hatását az egy alkalommal mért, normál eloszlást mutató adatokra kétutas varianciaanalízissel (Two-way ANOVA) és Tukey-féle post hoc teszttel vizsgáltuk.

Az egyes csoportok eredményeit összevetve a $*p < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai analízist GraphPad Prism 8 programmal végeztük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. IL-1 hiányában nem alakult ki stressz-okozta mechanikai hiperalgéria

A kiindulási mechanonociceptív küszöb értékek átlaga mind a WT, mind az IL-1 KO hím egerek esetében szignifikánsan magasabb volt, mint az azonos genotípusú nőstényeké. Továbbá, a génkiütött nőstény állatok kiindulási nociceptív küszöbe szignifikánsan magasabb volt, mint a nőstény WT csoporté. A hím állatok esetében ilyen genotípus különbséget nem tapasztaltunk. A CRS hatására a hím állatokban már az első hét során szignifikáns mértékben lecsökkent a mechanonociceptív küszöb, míg a második hétre mind a hím, mind nőstény egerekben megközelítőleg 15–20%-os csökkenés, mechanikai hiperalgéria alakult ki. A mechanikai hiperalgéria a kísérlet 4 hete alatt végig fennmaradt a hímekben, míg nőstényeknél 3 hét után megszűnt.

Hím egerekben az IL-1 gén kiütése csak tendenciózusan, nem szignifikáns mértékben csökkentette a stressz által indukált mechanikai hiperalgéziát, azonban nőstényekben kivédte a második hétre kialakuló stressz-okozta szignifikáns mechanikai fájdalomküszöb csökkenést.

4.2. Az IL-1 gén hiánya nem befolyásolta a stressz-okozta hideg hiperalgézia kialakulását

A jeges vízből való kiindulási lábkirántás latencia értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a hím WT, és az IL-1 KO állatok esetében is, mint az azonos genotípusú nőstény állatoké. Sem a hím, sem a nőstény állatok esetében nem tapasztaltunk genotípus különbséget a kiindulási értékek között.

A CRS hatására mind a hím, mind a nőstény egerekben 60–70%-os hideg tolerancia csökkenést tapasztaltunk már az első héttől kezdődően. A kialakult hideg hiperalgézia valamennyi csoportban változatlan maradt a teljes vizsgálati időszak alatt. Az IL-1 hiány sem a hím, sem a nőstény állatokban nem befolyásolta a stressz által kiváltott hideg hiperalgéziát.

4.4. A stressz által kiváltott mikrogliózis nem alakult ki az IL-1 KO nőstényekben fájdalommal összefüggésbe hozható agyterületeken

A nőstény állatokban, a vizsgált agyterületeken IBA1 integrált denzitás értékei azonos értéket mutattak a WT és IL-1 KO nem stresszelt állatokban. Két hét CRS után a stresszelt WT egerekben szignifikáns IBA1 integrált denzitás emelkedést tapasztaltunk, míg KO állatokban nem volt stressz-okozta változás ebben a paraméterben.

A mikroglia sejtaktiváció mértékét sem a genotípus különbség, sem a stressz hatás alkalmazása nem befolyásolta szignifikánsan.

4.5. A stressz okozta asztrogliózis nem alakult ki az IL-1 KO nőstényekben a CA3 területén

A nőstény állatokban, a GFAP+ sejtek integrált denzitása nem mutatott különbséget a csoportok között. A CRS nem befolyásolta szignifikánsan az asztrocita integrált denzitás értékeit a PAG és CA3 agyterületeken.

Ezzel szemben a CRS szignifikáns asztrocita aktivációt váltott ki a hippokampusz CA3 területén a WT állatokban, amit nem tapasztaltunk IL-1 KO csoportban. A PAG területén nem tapasztaltuk ezt a változást egyik genotípusban sem. A CeA és az S1HL régiókban nem voltak kimutatható GFAP+ asztrociták.

4.6. Viselkedés vizsgálatok WT és IL-1 KO állatokban

Nőstény állatokban, két hét CRS-t követően jelentős csökkenés volt megfigyelhető az immobilitással töltött időben a FST során a IL-1 KO egerek esetében, azonban a WT állatok esetében nem. A négy hetes protokollt követően a négy csoport közötti különbségek eltűntek.

A LDB esetén a világos rekeszben eltöltött idő nem változott CRS hatására sem 2 hét, sem 4 hét elteltével. Ugyanakkor a nem stresszelt csoportok között, a 2. hét végén szignifikáns különbség volt kimutatható: az IL-1 KO egerek több időt töltöttek a világos térfélen, mint WT társaik.

Az OFT esetében két hét CRS után IL-1 KO egerekben szignifikánsan megnövekedett lokomotoros aktivitást tapasztaltunk, míg WT egereknél ez a stressz-okozta motoros aktivitás növekedés nem érte el a szignifikáns mértéket.

4.7. Az IL-1 receptor antagonistá anakinra kivédte a stressz okozta mechanikai-, és csökkentette a hideg hiperalgéziát

Stresszelt hím egerekben a napi egyszeri intraperitoneális oldószeres kezelést kapó csoport mechanikai küszöbe már az első hét folyamán szignifikánsan lecsökkent a nem stresszelt, oldószerrel kapó csoporthoz képest. Az oldószerrel kezelt állatok esetében a krónikus stressz hatására közel 30%-os csökkenés volt megfigyelhető a mechanonociceptív küszöb értékben a második hét folyamán, azonban ezt a stressz-okozta csökkenést nem tapasztaltuk az IL-1R-antagonista anakinra vegyületet kapó csoport esetében. A CRS protokoll által kiváltott hideg hiperalgézia mértéke szintén szignifikánsan kisebb mértékű volt a második hét folyamán az anakinra kezelt állatokban, mint az oldószerrel kapók csoportjában.

4.8 CX3CR1 hiányában nem alakult ki a stressz-okozta mechanikai hiperalgézia

A kiindulási mechanonociceptív küszöbértékek átlaga mind a WT, mind a CX3CR1 génkiváltott hím egerek esetében szignifikánsan magasabb volt, mint a nőstény állatoké. Továbbá a génkiváltott nőstény állatok alap nociceptív küszöbe szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a nőstény WT csoporté. A hím állatok esetében ilyen genotípus különbséget nem tapasztaltunk. A CRS hatására mind a hím, mind nőstény egerekben a mechanonociceptív küszöb csökkenését, 15–20%-os mechanikai hiperalgéziát tapasztaltunk a második hétre. Mind a hím, mind a nőstény állatok esetén a CX3CR1 gén hiánya megakadályozta a stressz-okozta mechanikai hiperalgézia kialakulását.

4.9. Az CX3CR1 gén hiánya csökkentette a stressz-okozta hideg hiperalgézia kialakulását

A hím állatok kiindulási hidegérzékenység értékei mindkét genotípusban szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a nőstény állatoké. Az azonos nemű állatok között nem volt különbség a két genotípus kiindulási értékei között.

A CRS hatására mind a hím, mind nőstény egerekben 60–70%-os hideg tolerancia csökkenést tapasztaltunk már az első héttől kezdődően. Mind a nőstény, mint a hím állatok esetében

szignifikánsan kisebb mértékű hideg hiperalgéria alakult ki a stressz hatására a CX3CR1 génkiütött állatokban.

4.11. A stressz hatására kialakuló mikrogliózis nem alakult ki a CX3CR1 KO hímekben stressz és fájdalom érintett agyterületeken

A hím állatokban, a vizsgált agyterületek IBA1 integrált denzitás értékei szignifikánsan magasabbak voltak a CX3CR1 KO nem stresszelt állatokban, mint a WT állatokban S1HL és a PAG területén- Két hét CRS-t követően szignifikánsan emelkedett integrált IBA1 denzitást tapasztaltunk a stresszelt WT egerekben az S1HL, és PAG területeken, míg KO állatokban nem tapasztaltunk változást ebben a paraméterben. A CA3, valamint CeA régióknál nem tapasztaltunk különbséget a csoportok között.

A mikroglia sejt aktiváció mértéke szignifikánsan megemelkedett a stressz hatására az S1HL és a CA3 területén a WT állatokban, azonban a KO állatokban nem. A PAG és a CeA területén sem a genotípus, sem a stressz nem befolyásolta szignifikánsan az aktivált mikroglia arányát.

4.12. CX3CR1 gén hiányában magasabb volt a mikroglia-neuron kontaktok aránya az elsődleges érző kéregben

A hím állatokban vizsgált, IBA1 és Kv2.1 immunfluoreszcens jelöléssel végzett kvantifikálás során meghatározott mikroglia sejtek nagyobb felületen léptek kontaktusba a CX3CR1 génkiütött állatokban, mint a WT állatokban, az alkalmazott stresszhatástól függetlenül. Az egymással kapcsolatban nem álló, a neuronnal szomatikus kapcsolódást létesítő, illetve szatellita mikroglia sejtek aránya minden vizsgálati csoportban azonos volt, genotípustól és stresszhatástól függetlenül.

4.13. A stressz által kiváltott asztrogliózis nem alakult ki CX3CR1 KO hímekben a periakveduktális szürkeállományban

Hím WT állatokban a PAG területén a GFAP+ sejtek integrált denzitása szignifikánsan megemelkedett a stressz hatására, azonban a CX3CR1 hiányában ez az emelkedés elmaradt. A CA3 területén nem találtunk különbséget a 4 csoport között. Sem a genotípus, sem a CRS nem befolyásolta szignifikánsan a GFAP+ asztrocita sejt aktivációt a PAG és a CA3 területén. A CeA és az S1HL régiókban nem voltak kimutathatók GFAP+ asztrociták.

4.14. A stressz okozta mikrogliózis nem alakult ki a CX3CR1 KO nőstényekben a hippocampusz CA3 régiójában

Nőstény állatokban a vizsgált agyterületeken, az S1HL, a PAG, a CA3, valamint a CeA területén kapott integrált denzitás értékeket sem a genotípus, sem a stresszhatás nem befolyásolta szignifikánsan. A hippocampusz CA3 területén a CRS-t követően szignifikánsan

megemelkedett a WT állatokban az aktivált IBA1+ mikroglia sejtek aránya, ami CX3CR1 hiányában nem mutatkozott. A többi vizsgált agyterületen nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a négy csoport között.

4.15. A stressz-okozta asztrogliózis nem alakult ki a CX3CR1 KO nőstényekben fájdalommal összefüggésbe hozható agyterületeken

Nem stresszelt, CX3CR1 génkiütött nőstény állatokban a PAG területén szignifikánsan magasabb integrált denzitást mértünk, mint a WT állatokban. A PAG területén, valamint a CA3 területén is szignifikánsan megemelkedett a stressz hatására az integrált denzitás a WT állatok mintáiban, azonban a CX3CR1 hiányos állatokban nem.

A PAG, valamint a CA3 területén is szignifikánsan megemelkedett a stressz hatására az aktivált GFAP+ sejtek aránya WT nőstény állatokban, azonban a CX3CR1 génhiányos állatok mintáiban nem. A CeA és az S1HL régiókban nem voltak kimutathatók GFAP+ asztrociták.

4.16. Viselkedés vizsgálatok WT és CX3CR1 KO állatokban

Az FST során sem a genotípus, sem az alkalmazott stresszhatás nem okozott szignifikáns eltérést a csoportok között egyik nemből sem.

Az LDB esetén a világos rekeszben eltöltött idő nem változott CRS hatására a WT állatokban, azonban a nőstény CX3CR1 KO állatok esetében szignifikáns emelkedést láttunk ebben a paraméterben a 2 hét CRS-t követően. Ugyanakkor a hím nem stresszelt állatokban szignifikáns különbség volt kimutatható: a CX3CR1 génkiütött egerek több időt töltöttek a világos térfeleken, mint WT társaik.

Az OFT tesztben szignifikánsan alacsonyabb spontán lokomotoros aktivitást mutattak a hím állatok esetében a stresszelt, a nőstények esetében a nem stresszelt CX3CR1 génkiütött csoportok.

4.17. A CX3CR1 antagonistá AZD8797 kivédte a stressz okozta mechanikai, de nem befolyásolta a hideg hiperalgéziát

A hím egerekben vizsgált, oldószerrel kezelt állatok esetében a krónikus stressz hatására jelentős csökkenés volt megfigyelhető a mechanonociceptív küszöbértékben a második heti mérés idejére, azonban ezt a csökkenést nem tapasztaltuk az CX3CR1-antagonista AZD8797 vegyületet kapó csoport esetében. A CRS protokoll által kiváltott hideg hiperalgézia mértéke azonban azonos volt mind az oldószerrel, mind az AZD8797-tel kezelt csoportokban.

4.18. Az NRLP3 blokkoló MCC950 kivédte a stressz okozta mechanikai, de nem befolyásolta a hideg hiperalgéziát

Oldószerrel kezelt hím állatokban a krónikus stressz hatására jelentős csökkenés volt megfigyelhető a mechanonociceptív küszöbértékben a második heti mérés idejére, azonban ezt a csökkenést nem tapasztaltuk az NRLP3 inflammaszóma antagonistá MCC950 vegyületet kapó csoport esetében. A CRS protokoll által kiváltott hideg hiperalgézia mértéke azonban azonos volt mind az oldószerrel, mind az MCC950-el kezelt csoportokban.

4.19. HK-1 hiányában nem alakult ki stressz-okozta mechanikai hiperalgézia

A kiindulási mechanonociceptív küszöb értékek átlaga mind a WT, mind az Tac4 KO hím egerek esetében szignifikánsan magasabb volt, mint az azonos genotípusú nőstényeké. Sem a hím, sem a nőstény állatok esetében nem tapasztaltunk genotípus különbséget a kiindulási értékek között. A CRS hatására szignifikáns mértékben lecsökkent a mechanonociceptív küszöb a vad típusú állatok esetében, azonban a HK-1 hiányában nem alakult ki ez a stressz által indukált mechanikai hiperalgézia.

4.20. A HK-1 hiánya nem befolyásolta a stressz-okozta hideg hiperalgézia kialakulását

A jeges vízből való kiindulási lábkiirántás latencia értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a hím WT, és az Tac4 KO állatok esetében is, mint az azonos genotípusú nőstény állatoké. Sem a hím, sem a nőstény állatok esetében nem tapasztaltunk genotípus különbséget a kiindulási értékek között.

A CRS hatására mind a hím, mind a nőstény egerekben 50–70%-os hideg tolerancia csökkenést tapasztaltunk már az első héttől kezdődően, ami hasonló mértékű volt a vad és Tac4 génkiváltott egerek esetében. A nem stresszelt csoportokban is jelentős mértékű hideg tolerancia csökkenés volt mérhető, azonban ez a csökkenés a kísérlet első két hetében szignifikánsan kisebb mértékű volt a hím állatokban HK-1 hiányában.

5. MEGBESZÉLÉS

Vizsgálataink elsőként szolgáltatnak adatokat arra, hogy a mikroglia CX3CR1, valamint az NRLP3 inflammaszóma és az általa termelt IL-1 valamint a HK-1 fontos szerepet játszik a krónikus stressz okozta fájdalom kialakulásában feltehetően a glia-neuron kapcsolatok befolyásolásán keresztül a fájdalomfeldolgozásban kulcsszerepet játszó agyterületeken, mint a PAG és az S1HL. Az észlelt mikroglia és asztrocita morfológiai változások a neuroinflammációs folyamatok jelenlétére utalnak, mind hím, mind nőstény egerekben. Ezen túlmenően a CX3CR1-NRLP3-IL-1 tengely farmakológiai gátlása új terápiás lehetőséget nyújthat a stressz-okozta fájdalombetegségek kezelésében.

A CRS modellben jól definiálható fájdalomparaméterek, agyi neuroinflammációs változások, nemi különbségek figyelhetők meg

Az alapküszöb mérések esetén a nőstény egerek alacsonyabb hideg-érzékenységet és magasabb mechanikai érzékenységet mutattak, mint a hímek genotípustól függetlenül, mely jelenséget már leírtak az irodalomban (53–55).

A CRS modell hatására mind hím, mind nőstény vad típusú egerekben szignifikáns mechanikai és hideg hiperalgéria alakult ki. A mechanikai fájdalomküszöb szignifikáns mértékű csökkenése lassabb ütemben jelent meg (a 2. héttől), míg a hideg ingerre adott fokozott fájdalomválasz már az első hét során kialakult. Míg a hidegtűrés esetében nem, a mechanikai szenzitizáció esetében tapasztaltunk habituációt, továbbá a viselkedés vizsgálatok eredményei - melyekben nem volt különbség a stressznek kitett és nem kitett csoportok között - is arra utalnak, hogy a fájdalom és a viselkedés paraméterei különbséget mutatnak a hozzászokás kialakulási idejében és mértékében, melyet irodalmi adatok is megerősítenek (56–58).

A sejt-szám, -aktiváció és az objektív mérésre alkalmas integrál denzitás mérés (59,60) segítségével bizonyítottuk, hogy a CRS modell hatására mind a hím, mind a nőstény állatok esetén szignifikáns mértékű mikrogliózis és asztrogilózis jön létre több fájdalom- és stressz szabályozásban résztvevő agyterületen. Ezen eredményinket alátámasztják, hogy több stresszhatáson alapuló FM modellben kimutatták a neuroinflammációt, mikroglia sejt morfológiai eltérések kialakulását, vagy a neuroinflammáció jelátviteli folyamataiban résztvevő molekulák növekedését különböző agyterületeken, melyet a kutató csoportunk által publikált friss review is taglal (61). Klinikai vizsgálatok bizonyították, hogy FM páciensek fájdalomfeldolgozásban szerepet játszó agyi régiókban fokozott gliasejt aktiváció tapasztalható, ami jól korrelál a szubjektív fájdalomszintjükkel (17). Vizsgálatainkban a mikroglia sejtekkel együtt fokozott asztrocita sejt aktivációt is tapasztaltunk a stressz hatására. Természetes körülmények között az asztrociták védő, támogató szerepet töltenek be, és részt vesznek a neuronok közti kommunikációban (62). Patológiás állapotokban azonban reaktívvá válhatnak, amely több neurológiai betegséghez köthető. Az aktivált mikroglia sejtek proinflammatorikus citokineket, például TNF- α -t és IL-1-et szabadítanak fel, melyek toxikus, reaktív asztrocita állapotot válthatnak ki (63). Irodalmi adatok és saját eredményeink alapján feltételezhető, hogy a stressz mellett fokozott mikroglia-aktiváció tovább stimulálja az asztrocitákat vad típusú állatokban (62). Ezt a jövőben asztrocita-mikroglia kettős festéssel tervezzük vizsgálni a továbbiakban.

A HK-1 nélkülözhetetlen a stressz-okozta fájdalom kialakulásában

A HK-1 széles körben expresszáldó gyulladásmodulátor, amely immun- és hámsejtekben termelődik, és szerepet játszik légúti, bőr- és bélgyulladásban is (64–66). A Tac4 gén által kódolt peptid a perifériás szövetek mellett a központi idegrendszerben is stabil eloszlást mutat (37). Kísérleteinkben a stressz-okozta mechanikai hiperalgémia HK-1 hiányában elmaradt, míg a hideg hiperalgémia változatlan maradt, ami arra utal, hogy a HK-1 főként centrális mechanizmusokon keresztül járul hozzá a fájdalom szenzitizációhoz. Állatmodellekben a HK-1 fokozta a fájdalomreakciót, amit részben neuron-glia interakciók és neurotranszmitter rendszerek befolyásolása magyarázhat (67). Mikroglia-gátlás csökkentette a HK-1 szintet és a neuropátiás fájdalmat, míg anti-HK-1 antitestek hatékonyan mérsékeltek a diabéteszes fájdalmat (68). Klinikai mintákban a HK-1 expresszió korrelált a lumbágós derékfájás súlyosságával, és fibromyalgiában is magasabb szintet mutattak ki (69)(70). Ezek alapján a HK-1 központi szerepet játszik a fájdalom kialakulásában, és potenciális terápiás célpont lehet.

A CX3CR1-IL-1 kaskád döntő szerepet játszik fájdalomérzékelésben

A CX3CR1 KO nőstény egerek kiindulási mechanikai fájdalomküszöbe alacsonyabb volt, mint a vad típusúaké, noha korábbi adatok szerint ez a génkiütés nem változtatja meg az alapfájdalom-küszöböt (71,72). A receptor a központi idegrendszerben főként mikroglia sejteken, a periférián viszont több immunsejten is megtalálható. Preklinikai modellekben a CX3CR1 kiesése megszüntette a mechanikai és hőérzékenységet neuropátia egérmodelljében (73), míg FKN beadása fokozta a fájdalmat (26); FKN-ellenes antitestek pedig mérsékeltek a traumás mono-neuropátiás fájdalmat patkányokban (74). FM-ben szenvedő betegek gerincvelői folyadékában emelkedett FKN-szintet írtak le (27). Vizsgálatainkban a CX3CR1 KO egerekben nem alakult ki stressz-indukálta mechanikai hiperalgémia, egyik nemből sem. Emellett a hideg túlérzékenység is csökkent a KO állatokban, különösen nőstényekben, amit a g gén hiányában a perifériás folyamatok módosulása vagy az immunsejtek és szenzoros neuronok közötti kölcsönhatások zavara magyarázhat.

Vizsgálatainkban a nőstény IL-1 KO egerek kiindulási mechanikai küszöbe magasabb volt, mint a WT állatoké, amit irodalmi adatok is alátámasztanak (75–78). Az IL-1 hiánya nőstényekben meggátolta a stressz-okozta mechanikai hiperalgémia kialakulását. Az IL-1 β közvetlenül is aktiválhatja a nociceptív C-rostokat, valamint fokozza az érzékenyítő mediátorok szintézisét (79). Receptora elsősorban kapszaicin-érzékeny neuronokon található meg, és aktivációja több intracelluláris jelátviteli utat indít el (80–82).

A klinikai vizsgálatok is alátámasztják az IL-1 szerepét a fájdalomban: magasabb IL-1 szinteket mutattak ki krónikus fájdalomban és neuropátiás betegekben (83). Noha a fibromyalgiában ez nem egyértelmű, az IL-1 szignalizáció stressz-indukálta fájdalomban különösen nőstényekben lehet meghatározó. Ezzel szemben hím állatokban az IL-1 gén hiánya kis mértékben befolyásolta a CRS-okozta fájdalom kialakulását.

A stressz okozta hideg-hiperalgézia tekintetében nem találtunk nemi különbséget: az IL-1 génkiütés sem hím, sem nőstény állatokban nem befolyásolta a stressz által kiváltott hidegtűrés csökkenést. Ez arra utal, hogy az IL-1 főként a centrális szenzitizáció (84) révén befolyásolja a mechanikai fájdalmat, míg a perifériás eredetű hideg érzékenység (85) kevésbé függ ettől a mediátortól.

Összességében eredményeink alapján az IL-1 és a CX3CR1 is fontos szerepet játszik a stressz okozta centrális fájdalomérzékenység kialakulásában, míg a hideg túlérzékenység hátterében a CX3CR1 igen, de az IL-1 nem tűnik meghatározónak. A női dominanciájú krónikus fájdalom-szindrómák kutatásában ezek a molekulák ígéretes célpontok lehetnek a nemi különbségek jobb megértéséhez.

A CX3CR1-IL-1 útvonal szerepet játszik a hangulat szabályozásában

CX3CR1 KO állatokban az állatok több időt töltöttek a világos térben az LDB mérés alatt, kevesebbet mozogtak az OFT-ben, és ellenállóbbnak bizonyultak a stressz hatásával szemben a szorongás- és depresszió-szerű viselkedésvizsgálatokban. Korábbi adatok is megerősítették, hogy a CX3CR1 hiánya fokozza a stressz-tűrést és mérsékli a depresszió-szerű viselkedést (86,87). Kísérleteinkben az IL-1 KO egerek mozgékonyabbak voltak az FST-ben és több időt töltöttek a világos térfélben. Neuropátiás modellben az IL-1 génkiütése a fájdalom- és depresszió-szerű tüneteket is enyhítette egerekben (88). Klinikai vizsgálatok alapján depressziós betegek perifériás vérében magasabb IL-1 szintet mértek, ami alátámasztja a gyulladásos citokinek szerepét a pszichiátriai tünetekben (89,90).

A CX3CR1-IL-1 szignalizáció központi szerepet játszik a CRS által kiváltott neuroinflammációs folyamatban

A mikroglia–neuron kommunikációban kulcsszerepet tölt be a CX3CR1 receptor és az IL-1 citokin, amelyek a neuroinflammáció és a homeosztatikus válaszreakciók szabályozásában is jelentősek. Bár a stressz által kiváltott mikroglia-aktiváció mechanizmusa nem teljesen ismert, a FKN–CX3CR1 útvonal ígéretes célpont lehet (91).

Egérmodellekben a CX3CR1 hiánya meggátolja a krónikus stressz által kiváltott mikroglia és neuronális változásokat, például a CA1 régióban megfigyelt arborizáció és plaszticitás csökkenését (92). A kérgi területeken és a striátumban a CX3CR1 KO egerek mikroglia sejtjei csökkent arborizációt mutattak, ami alacsonyabb gyulladásos génexpresszióval járt együtt (93). A hippocampusban azonban rövidebb mikroglia nyúlványokat és aberráns aktivációt figyeltek meg CX3CR1 KO egerekben (94), ami összhangban van a saját méréseinkkel: nem stresszelt KO állatokban magasabb IBA1 integrált denzitást találtunk, az S1HL és PAG régiókban.

Vizsgálatainkban a CX3CR1, illetve IL-1 hiánya megakadályozta a CRS által kiváltott IBA1+ mikroglia és GFAP+ asztrocita aktivációt, valamint az integrált denzitás emelkedését. Az Mivel a PAG régió központi szerepet tölt be a fájdalom szabályozásban, az itt megfigyelt CRS-okozta sejtaktiváció hiánya a KO állatokban a CX3CR1 és IL-1 gén szerepének fontosságát támasztja alá a stressz-indukálta fájdalom, továbbá a neuroinflammáció kialakításában.

A neuroinflammációs kaszkád farmakológiai gátlása hatékonyan csökkenti a fájdalmat

A génkiütéses modellek megerősítéseként farmakológiai gátlószerekkel (AZD8797 – CX3CR1 antagonist, MCC950 – NLRP3 gátló, anakinra – IL-1R antagonist) is vizsgáltuk ezen struktúrák stressz indukálta szenzitizációban betöltött lehetséges fájdalomcsillapító szerepét. Ezekkel a szerekkel elkerülhetők a génhiányos modellek kompenzációs torzításai, így jobban modellezhető a klinikai alkalmazás lehetősége.

A fejlesztés alatt álló (95) CX3CR1-antagonista AZD8797 szintén csökkentette a mechanikai fájdalomküszöb csökkenését, de a hideg hiperalgéziára nem hatott, ami a központi neuroinflammáció gátlására, de nem a perifériás szenzitizáció mérséklésére utal.

Az NLRP3 inflammaszóma gátló MCC950 megelőzte a stressz okozta mechanikai hiperalgézia kialakulását, de a hideg érzékenységet nem befolyásolta. Ez is megerősíti, hogy az NLRP3 szerepet játszik a centrális fájdalommechanizmusokban (84).

Az anakinra, egy már engedélyezett IL-1R blokkoló, jelentősen csökkentette a krónikus stressz okozta mechanikai és hideg hiperalgéziát, ami az IL-1 jelátvitel központi és perifériás szerepére utal (96).

Összefoglalva: mindhárom gátlószer – a CX3CR1 és NLRP3, IL-1R útvonalakat célozva – hatékonyan csökkentette a krónikus stressz indukálta fájdalmat. Eredményeink alapján ezek a molekulák ígéretes célpontok lehetnek a fibromyalgiához hasonló krónikus fájdalom szindrómák kezelésében.

6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA, KÖVETKEZTETÉSEK

1. Vizsgálatainkkal jellemeztük a krónikus immobilizációs stressz modellt, a hatására kialakuló fájdalomparamétereket, és neuroinflammációs változásokat.
2. Kísérleteinkkel KO állatok segítségével alátámasztottuk, hogy a mikroglia CX3CR1 receptora nélkülözhetetlen a CRS-indukálta mechanikai és hideg hiperalgéria kialakulásához mindkét nemben.
3. Vizsgálataink rámutattak, hogy az IL-1 fontos szerepet játszik a krónikus stressz-okozta mechanikai fájdalom kialakulásában, főként nőstény állatok esetében.
4. A HK-1 fontos szerepet tölt be a stressz-okozta mechanikai hiperalgéria kialakulásában
5. Vizsgálatainkban a CX3CR1–NLRP3-IL-1 jelátviteli útvonal farmakológiai gátlása megakadályozta a stressz-okozta fájdalom kialakulását.

7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. NICE. Chronic pain (primary and secondary) in over 16s: assessment of all chronic pain and management of chronic primary pain. NICE Guidel. 2021;(April).
2. Scholz J, Finnerup NB, Attal N, Aziz Q, Baron R, Bennett MI, et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. Vol. 160, Pain. 2019.
3. Barke A. Chronic Pain has arrived in the ICD-11. ISAP - Int Assoc Study Pain. 2019;
4. Martínez-Lavín M. Centralized nociplastic pain causing fibromyalgia: an emperor with no cloths? Clin Rheumatol. 2022 Dec 1;41(12):3915.
5. Galvez-Sánchez CM, Duschek S, Del Paso GAR. Psychological impact of fibromyalgia: current perspectives. Psychol Res Behav Manag. 2019;12:117–27.
6. Timmers I, Quaedflieg CWEM, Hsu C, Heathcote LC, Rovnaghi CR, Simons LE. The interaction between stress and chronic pain through the lens of threat learning. Neurosci Biobehav Rev. 2019 Dec 1;107:641.
7. Chapman CR, Tuckett RP, Song CW. Pain and Stress in a Systems Perspective: Reciprocal Neural, Endocrine, and Immune Interactions. J Pain. 2008 Feb 1;9(2):122–45.
8. Feller L, Feller G, Ballyram T, Chandran R, Lemmer J, Khammissa RAG. Interrelations between pain, stress and executive functioning. Br J Pain. 2019 Aug 1;14(3):188.
9. Fülöp B, Borbély É, Helyes Z. How does chronic psychosocial distress induce pain? Focus on neuroinflammation and neuroplasticity changes. Brain, Behav Immun - Heal. 2025 Mar 1;44:100964.
10. Dizner-Golab A, Lisowska B, Kosson D. Fibromyalgia – etiology, diagnosis and treatment including perioperative management in patients with fibromyalgia. Reumatologia. 2023;61(2):137.
11. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles M-A, Goldenberg DL, Katz RS, Mease P, et al. The American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity. Arthritis Care Res (Hoboken). 2010 Feb 23;62(5):600–10.
12. Theadom A, Cropley M, Smith HE, Feigin VL, Mcpherson K. Mind and body therapy for fibromyalgia. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Apr 9;2015(4).
13. Lauche R, Cramer H, Haüser W, Dobos G, Langhorst J. A Systematic Overview of Reviews for Complementary and Alternative Therapies in the Treatment of the Fibromyalgia Syndrome. Evidence-based Complement Altern Med. 2015;2015.
14. Fibromyalgia: Clinical manifestations and diagnosis in adults - UpToDate [Internet]. [cited 2025 Aug 28]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/fibromyalgia-clinical-manifestations-and-diagnosis-in-adults>
15. Complex regional pain syndrome in adults: Pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis

- UpToDate [Internet]. [cited 2025 Aug 28]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/complex-regional-pain-syndrome-in-adults-pathogenesis-clinical-manifestations-and-diagnosis#H17>
16. Palaniyappan L, Insole L, Summary NF. Combining antidepressants: a review of evidence. *Adv Psychiatr Treat*. 2009;15:90–9.
 17. Jung C, Ichesco E, Ratai EM, Gonzalez RG, Burdo T, Loggia ML, et al. Magnetic resonance imaging of neuroinflammation in chronic pain: a role for astrogliosis? *Pain*. 2020 Jul 1;161(7):1555–64.
 18. Albrecht DS, Forsberg A, Sandström A, Bergan C, Kadetoff D, Protsenko E, et al. Brain glial activation in fibromyalgia - A multi-site positron emission tomography investigation. *Brain Behav Immun*. 2019 Jan 1;75:72–83.
 19. Wu CYC, Lee RHC, Lee MHH, do Couto e Silva A, Hsieh TH, Possoit H, et al. Role of Neuroinflammation in the Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Neuroinflammation*. 2018 Jan 1;563–78.
 20. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: The Devil is in the Details. *J Neurochem*. 2016 Oct 1;139(Suppl 2):136.
 21. Erichsen D, Lopez AL, Peng H, Niemann D, Williams C, Bauer M, et al. Neuronal injury regulates fractalkine: Relevance for HIV-1 associated dementia. *J Neuroimmunol*. 2003;138(1–2):144–55.
 22. Hatori K, Nagai A, Heisel R, Ryu JK, Kim SU. Fractalkine and fractalkine receptors in human neurons and glial cells. *J Neurosci Res*. 2002 Aug 1;69(3):418–26.
 23. Meucci O, Fatatis A, Simen AA, Miller RJ. Expression of CX3CR1 chemokine receptors on neurons and their role in neuronal survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Jul 5;97(14):8075–80.
 24. Hellwig S, Brioschi S, Dieni S, Frings L, Masuch A, Blank T, et al. Altered microglia morphology and higher resilience to stress-induced depression-like behavior in CX3CR1-deficient mice. *Brain Behav Immun*. 2016 Jul 1;55:126–37.
 25. Winkler Z, Kuti D, Ferenczi S, Gulyás K, Polyák Á, Kovács KJ. Impaired microglia fractalkine signaling affects stress reaction and coping style in mice. *Behav Brain Res*. 2017 Sep 15;334:119–28.
 26. Milligan E, Zapata V, Schoeniger D, Chacur M, Green P, Poole S, et al. An initial investigation of spinal mechanisms underlying pain enhancement induced by fractalkine, a neuronally released chemokine. *Eur J Neurosci*. 2005 Dec;22(11):2775–82.
 27. Bäckryd E, Tanum L, Lind AL, Larsson A, Gordh T. Evidence of both systemic inflammation and neuroinflammation in fibromyalgia patients, as assessed by a multiplex protein panel applied to the cerebrospinal fluid and to plasma. *J Pain Res*. 2017 Mar 3;10:515–25.
 28. Bakhshi S, Shamsi S. MCC950 in the treatment of NLRP3-mediated inflammatory diseases: Latest evidence and therapeutic outcomes. *Int Immunopharmacol*. 2022 May 1;106.
 29. Wang Q, Yang S, Zhang X, Zhang S, Chen L, Wang W, et al. Inflammasomes in neurodegenerative diseases. *Transl Neurodegener* 2024 131. 2024 Dec 23;13(1):1–22.
 30. Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol* 2010 102. 2010 Jan 18;10(2):89–102.
 31. Schett G, Dayer JM, Manger B. Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol* 2015 121. 2015 Dec 10;12(1):14–24.
 32. Marsland AL, Walsh C, Lockwood K, John-Henderson NA. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2017 Aug 1;64:208.
 33. O'Mahony LF, Srivastava A, Mehta P, Ciurtin C. Is fibromyalgia associated with a unique cytokine profile? A systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2021 Jun 1;60(6):2602.
 34. Zhang Y, Lu L, Furlonger C, Wu GE, Paige CJ. Hemokinin is a hematopoietic-specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis. *Nat Immunol*. 2000;1(5):392–7.
 35. Goldstein DJ, Wang O, Gitter BD, Iyengar S. Dose-response study of the analgesic effect of lanepitant in patients with painful diabetic neuropathy. *Clin Neuropharmacol*. 2001;24(1):16–22.

36. Diener HC. RPR100893, a substance-P antagonist, is not effective in the treatment of migraine attacks. *Cephalalgia*. 2003 Apr;23(3):183–5.
37. Duffy RA, Hedrick JA, Randolph G, Morgan CA, Cohen-Williams ME, Vassileva G, et al. Centrally administered hemokinin-1 (HK-1), a neurokinin NK1 receptor agonist, produces substance P-like behavioral effects in mice and gerbils. *Neuropharmacology*. 2003;45(2):242–50.
38. Kurtz MM, Wang R, Clements MK, Cascieri MA, Austin CP, Cunningham BR, et al. Identification, localization and receptor characterization of novel mammalian substance P-like peptides. *Gene*. 2002 Aug 21;296(1–2):205–12.
39. Hunyady Á, Hajna Z, Gubányi T, Scheich B, Kemény Á, Gaszner B, et al. Hemokinin-1 is an important mediator of pain in mouse models of neuropathic and inflammatory mechanisms. *Brain Res Bull*. 2019 Apr 1;147:165–73.
40. Theoharides TC, Tsilioni I, Bawazeer M. Mast Cells, Neuroinflammation and Pain in Fibromyalgia Syndrome. *Front Cell Neurosci*. 2019 Aug 2;13.
41. Scheich B, Vincze P, Szőke É, Borbély É, Hunyady Á, Szolcsányi J, et al. Chronic stress-induced mechanical hyperalgesia is controlled by capsaicin-sensitive neurones in the mouse. *Eur J Pain*. 2017 Sep;21(8):1417–31.
42. Wollberg AR, Ericsson-Dahlstrand A, Juréus A, Ekerot P, Simon S, Nilsson M, et al. Pharmacological inhibition of the chemokine receptor CX3CR1 attenuates disease in a chronic-relapsing rat model for multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Apr 4;111(14):5409–14.
43. Yu B, Meng Y, Zhuang L, Xue Q, Zhang J. NLRP3-mediated Neuroinflammation Exacerbates Incisional Hyperalgesia and Prolongs Recovery After Surgery in Chronic Stressed Rats. *Pain Physician*. 2021;24:E1099–108.
44. Helyes Z, Tékus V, Szentés N, Pohóczky K, Botz B, Kiss T, et al. Transfer of complex regional pain syndrome to mice via human autoantibodies is mediated by interleukin-1–induced mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Jun 6;116(26):13067–76.
45. Helyes Z, Szabó Á, Németh J, Jakab B, Pintér E, Bánvölgyi Á, et al. Antiinflammatory and Analgesic Effects of Somatostatin Released from Capsaicin-Sensitive Sensory Nerve Terminals in a Freund's Adjuvant-Induced Chronic Arthritis Model in the Rat. *Arthritis Rheum*. 2004 May;50(5):1677–85.
46. Tékus V, Hajna Z, Borbély É, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, et al. A CRPS-IgG-transfer-trauma model reproducing inflammatory and positive sensory signs associated with complex regional pain syndrome. *Pain*. 2014 Feb;155(2):299–308.
47. Ghasemi M, Montaser-Kouhsari L, Shafaroodi H, Nezami BG, Ebrahimi F, Dehpour AR. NMDA receptor/nitroergic system blockage augments antidepressant-like effects of paroxetine in the mouse forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009 Oct 16;206(2):325–33.
48. Ihne JL, Fitzgerald PJ, Hefner KR, Holmes A. Pharmacological modulation of stress-induced behavioral changes in the light/dark exploration test in male C57BL/6J mice. *Neuropharmacology*. 2012 Jan;62(1):464–73.
49. Krauter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods Mol Biol*. 2019;1916:99–103.
50. Dombi Á, Santa C, Bátaí IZ, Kormos V, Kecskés A, Tékus V, et al. Dimethyl Trisulfide Diminishes Traumatic Neuropathic Pain Acting on TRPA1 Receptors in Mice. *Int J Mol Sci* 2021, Vol 22, Page 3363. 2021 Mar 25;22(7):3363.
51. Fülöp B, Hunyady Á, Bencze N, Kormos V, Szentés N, Dénes Á, et al. IL-1 Mediates Chronic Stress-Induced Hyperalgesia Accompanied by Microglia and Astroglia Morphological Changes in Pain-Related Brain Regions in Mice. *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 13;24(6):5479.
52. Cserép C, Pósfaí B, Lénárt N, Fekete R, László ZI, Lele Z, et al. Microglia monitor and protect neuronal function through specialized somatic purinergic junctions. *Science*. 2020 Jan 31;367(6477):528–37.
53. Barrett AC, Smith ES, Picker MJ. Sex-related differences in mechanical nociception and antinociception produced by μ - and κ -opioid receptor agonists in rats. *Eur J Pharmacol*. 2002 Oct 4;452(2):163–73.
54. Bourgeois JR, Feustel PJ, Kopec AM. Sex differences in choice-based thermal nociceptive

- tests in adult rats. *Behav Brain Res*. 2022 Jul 5;429:113919.
55. Body Weight Information for C57BL/6J | The Jackson Laboratory.
 56. Selye H. Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J*. 1950 Jun 17;1(4667):1383–92.
 57. Lee JH, Kim TJ, Kim JW, Yoon JS, Kim HS, Lee KM. The Anti-apoptotic Effect of Ghrelin on Restraint Stress-Induced Thymus Atrophy in Mice. *Immune Netw*. 2016;16(4):242–8.
 58. Marin MT, Cruz FC, Planeta CS. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol Behav*. 2007 Jan 30;90(1):29–35.
 59. Coventry BJ, Bradley J, Skinner JM. Differences between standard and high-sensitivity immunohistology in tissue sections — comparison of immunoperoxidase staining methods using computerized video image analysis techniques. *Pathology*. 1995;27(3):221–3.
 60. Hsu SM, Soban E. Color modification of diaminobenzidine (DAB) precipitation by metallic ions and its application for double immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem*. 1982;30(10):1079–82.
 61. Fülöp B, Borbély É, Helyes Z. How does chronic psychosocial distress induce pain? Focus on neuroinflammation and neuroplasticity changes. *Brain, Behav Immun - Heal*. 2025 Mar;44:100964.
 62. Patani R, Hardingham GE, Liddelow SA. Functional roles of reactive astrocytes in neuroinflammation and neurodegeneration. *Nat Rev Neurol* 2023 197. 2023 Jun 12;19(7):395–409.
 63. Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*. 2017 Jan 26;541(7638):481–7.
 64. Dai L. Hemokinin-1 and mucosal inflammation in human colon. 2017;
 65. Bandyopadhyay M, Morelli AE, Balmert SC, Ward NL, Erdos G, Sumpter TL, et al. Skin codelivery of contact sensitizers and neurokinin-1 receptor antagonists integrated in microneedle arrays suppresses allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2022 Jul 1;150(1):114–30.
 66. Hajna Z, Borbély É, Kemény Á, Botz B, Kereskai L, Szolcsányi J, et al. Hemokinin-1 is an important mediator of endotoxin-induced acute airway inflammation in the mouse. *Peptides*. 2015;64:1–7.
 67. Endo D, Ikeda T, Ishida Y, Yoshioka D, Nishimori T. Effect of intrathecal administration of hemokinin-1 on the withdrawal response to noxious thermal stimulation of the rat hind paw. *Neurosci Lett*. 2006 Jan 9;392(1–2):114–7.
 68. Hayashi T, Kanno SI, Watanabe C, Scuteri D, Agatsuma Y, Hara A, et al. Role of Spinal Cholecystokinin Octapeptide, Nociceptin/Orphanin FQ, and Hemokinin-1 in Diabetic Allodynia. *Biomedicines*. 2024 Jun 1;12(6):1332.
 69. He S, Liu X, Luo S, Li H, Min J, Shi Q. Mast Cells and Their Related Gene HK-1 are Closely Associated with Discogenic Low Back Pain: A Bioinformatics and Clinical Sample Study. *J Pain Res*. 2024;17:1401.
 70. Tsilioni I, Russell IJ, Stewart JM, Gleason RM, Theoharides TC. Neuropeptides CRH, SP, HK-1, and Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF Are Increased in Serum of Patients with Fibromyalgia Syndrome, Implicating Mast Cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2016 Mar 1;356(3):664–72.
 71. Holmes FE, Arnott N, Vanderplank P, Kerr NCH, Longbrake EE, Popovich PG, et al. Intra-neural administration of fractalkine attenuates neuropathic pain-related behaviour. *J Neurochem*. 2008 Jul;106(2):640–9.
 72. Staniland AA, Clark AK, Wodarski R, Sasso O, Maione F, D'Acquisto F, et al. Reduced inflammatory and neuropathic pain and decreased spinal microglial response in fractalkine receptor (CX3CR1) knockout mice. *J Neurochem*. 2010;114(4):1143–57.
 73. Silva R, Malcangio M. Fractalkine/CX3CR1 Pathway in Neuropathic Pain: An Update. *Front Pain Res*. 2021;2:684684.
 74. Sessler K, Blechschmidt V, Hoheisel U, Mense S, Schirmer L, Treede RD. Spinal cord fractalkine (CX3CL1) signaling is critical for neuronal sensitization in experimental nonspecific, myofascial low back pain. *J Neurophysiol*. 2021 May 1;125(5):1598–611.

75. Shornick LP, De Togni P, Mariathasan S, Goellner J, Strauss-Schoenberger J, Karr RW, et al. Mice deficient in IL-1 β manifest impaired contact hypersensitivity to trinitrochlorobenzene. *J Exp Med*. 1996;183(4):1427–36.
76. Wolf G, Yirmiya R, Goshen I, Iverfeldt K, Holmlund L, Takeda K, et al. Impairment of interleukin-1 (IL-1) signaling reduces basal pain sensitivity in mice: genetic, pharmacological and developmental aspects. *Pain*. 2003 Aug 1;104(3):471–80.
77. Torres R, Macdonald L, Croll SD, Reinhardt J, Dore A, Stevens S, et al. Hyperalgesia, synovitis and multiple biomarkers of inflammation are suppressed by interleukin 1 inhibition in a novel animal model of gouty arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009 Oct;68(10):1602–8.
78. Honore P, Wade CL, Zhong C, Harris RR, Wu C, Ghayur T, et al. Interleukin-1 α gene-deficient mice show reduced nociceptive sensitivity in models of inflammatory and neuropathic pain but not post-operative pain. *Behav Brain Res*. 2006 Feb 28;167(2):355–64.
79. Binshtok AM, Wang H, Zimmermann K, Amaya F, Vardeh D, Shi L, et al. Nociceptors Are Interleukin-1 β Sensors. *J Neurosci*. 2008 Dec 12;28(52):14062.
80. Ebbinghaus M, Uhlig B, Richter F, Von Banchet GS, Gajda M, Bräuer R, et al. The role of interleukin-1 β in arthritic pain: main involvement in thermal, but not mechanical, hyperalgesia in rat antigen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012 Dec;64(12):3897–907.
81. Schaible HG. Nociceptive neurons detect cytokines in arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014 Oct 30;16(1):1–9.
82. Mailhot B, Christin M, Tessandier N, Sotoudeh C, Bretheau F, Turmel R, et al. Neuronal interleukin-1 receptors mediate pain in chronic inflammatory diseases. *J Exp Med*. 2020 Sep 9;217(9).
83. Lindenlaub T, Sommer C. Cytokines in sural nerve biopsies from inflammatory and non-inflammatory neuropathies. *Acta Neuropathol*. 2003 Jun 5;105(6):593–602.
84. Woolf CJ. Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2010 Mar;152(3 Suppl):S2.
85. Jesus CHA, Scarante FF, Schreiber AK, Gasparin AT, Redivo DDB, Rosa ES, et al. Comparative study of cold hyperalgesia and mechanical allodynia in two animal models of neuropathic pain: different etiologies and distinct pathophysiological mechanisms. *Brazilian J Pharm Sci*. 2022;58:e20637.
86. Wohleb ES, Powell ND, Godbout JP, Sheridan JF. Stress-induced recruitment of bone marrow-derived monocytes to the brain promotes anxiety-like behavior. *J Neurosci*. 2013;33(34):13820–33.
87. Liu Y, Zhang T, Meng D, Sun L, Yang G, He Y, et al. Involvement of CX3CL1/CX3CR1 in depression and cognitive impairment induced by chronic unpredictable stress and relevant underlying mechanism. *Behav Brain Res*. 2020 Mar 2;381.
88. Gui WS, Wei X, Mai CL, Murugan M, Wu LJ, Xin WJ, et al. Interleukin-1 β overproduction is a common cause for neuropathic pain, memory deficit, and depression following peripheral nerve injury in rodents. *Mol Pain*. 2016 May 3;12.
89. Maes M, Bosmans E, Meltzer HY, Scharpé S, Suy E. Interleukin-1 β : A putative mediator of HPA axis hyperactivity in major depression? *Am J Psychiatry*. 1993;150(8):1189–93.
90. Thomas AJ, Davis S, Morris C, Jackson E, Harrison R, O'Brien JT. Increase in interleukin-1 β in late-life depression. *Am J Psychiatry*. 2005 Jan;162(1):175–7.
91. Hinwood M, Kluge MG, Ilicic M, Walker FR. Understanding microglial involvement in stress-induced mood disturbance: a modulator of vulnerability? *Curr Opin Behav Sci*. 2019 Aug 1;28:98–104.
92. Rimmerman N, Schottlender N, Reshef R, Dan-Goor N, Yirmiya R. The hippocampal transcriptomic signature of stress resilience in mice with microglial fractalkine receptor (CX3CR1) deficiency. *Brain Behav Immun*. 2017 Mar 1;61:184–96.
93. Gyoneva S, Hosur R, Gosselin D, Zhang B, Ouyang Z, Coteleur AC, et al. Cx3cr1-deficient microglia exhibit a premature aging transcriptome. *Life Sci Alliance*. 2019;2(6):e201900453.
94. Pagani F, Paolicelli RC, Murana E, Cortese B, Di Angelantonio S, Zurolo E, et al. Defective microglial development in the hippocampus of Cx3cr1 deficient mice. *Front Cell Neurosci*. 2015 Mar 31;9:133241.
95. Study Details | A Study to Evaluate the Safety of KAND567, in Combination with Carboplatin

- Therapy, in Women with Recurrent Epithelial Ovarian, Fallopian Tube, or Primary Peritoneal Cancer | ClinicalTrials.gov.
96. Aczél T, Kecskés A, Kun J, Szenthe K, Bánáti F, Szathmary S, et al. Hemokinin-1 gene expression is upregulated in trigeminal ganglia in an inflammatory orofacial pain model: Potential role in peripheral sensitization. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 2;21(8).

8. PUBLIKÁCIÓK

8.1. Az értekezés alapjául szolgáló publikációk

1. Fülöp, Barbara; Hunyady, Ágnes; Bencze, Noémi; Kormos, Viktória; Szentes, Nikolett; Dénes, Ádám; Lénárt, Nikolett; Borbély, Éva ✉; Helyes, Zsuzsanna
IL-1 Mediates Chronic Stress-Induced Hyperalgesia Accompanied by Microglia and Astroglia Morphological Changes in Pain-Related Brain Regions in Mice
INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 24 : 6 Paper: 5479 , 25 p.
(2023) (IF: 4,9)

2. Borbély, Éva ✉; Kecskés, Angéla*; Kun, József; Kepe, Eszter; Fülöp, Barbara; Kovács-Rozmer, Katalin; Scheich, Bálint; Renner, Éva; Palkovits, Miklós; Helyes, Zsuzsanna
Hemokinin-1 is a mediator of chronic restraint stress-induced pain
SCIENTIFIC REPORTS 13 : 1 Paper: 20030 , 15 p. (2023) (IF: 3,8)

3. Barbara Fülöp, Ágnes Király, Rebeka Petrák, Júlia Müller, Tünde Biró-Sütő, Viktória Kormos, Valéria Tékus, Katalin Rozmer, Ádám Dénes, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes
Microglial CX3CR1 signaling mediates stress-induced pain behavior in mice.
Közlésre benyújtva a Brain, Behavior, and Immunity folyóirathoz.

Az értekezés alapját képező publikációk összesített impact factor: 8,7

Az értekezés alapját képező publikációk összes független citációja: 13

8.2. További publikációk

1. Fülöp, B. ✉; Borbély, É. ; Helyes, Z.
How does chronic psychosocial distress induce pain? Focus on neuroinflammation and neuroplasticity changes
BRAIN BEHAVIOR IMMUNITY - HEALTH 44 Paper: 100964 , 8 p. (2025) (IF: 3,5)

Egyéb publikációk összesített impact factor: 3,5

Egyéb publikációk összes független citációja: 1

10. KONGRESSZUSI ELŐADÁSOK JEGYZÉKE

Somatostatin 4 receptor agonists in mouse models of neuropathic pain, anxiety and depression-like behaviour

Barbara Fülöp, Éva Borbély, Ágnes Hunyady, Boglárka Kántás, János Szolcsányi, Erika Pintér, Zsuzsanna Helyes

Frigyes Korányi Science Forum – RECOOP Student Conference, 2018, Budapest, Magyarország

Effect of orally administered somatostatin 4 receptor agonists in neuropathic pain, anxiety and depression-like behaviour in mouse models

Barbara Fülöp, Boglárka Kántás, Ágnes Hunyady, Éva Borbély, Erika Pintér, János Szolcsányi, Zsuzsanna Helyes

YES Meeting (Young European Scientist Meeting), 2019, Porto, Portugália

Interleukin-1 mediates chronic restraint stress-induced neuropathic hyperalgesia in a mouse model

Barbara Fülöp, Ágnes Hunyady, Éva Borbély, Nikolett Szentes, Ádám Dénes, Nikolett Lénárt, Zsuzsanna Helyes

HMAA Conference, 2019, Sarasota, FL, USA

Interleukin-1 mediates chronic restraint stress-induced neuropathic hyperalgesia in a mouse model

Barbara Fülöp, Ágnes Hunyady, Éva Borbély, Nikolett Szentes, Ádám Dénes, Nikolett Lénárt, Zsuzsanna Helyes

11th ISCTICO – HUPHAR – IUPHAR Conference, 2021, Pécs, Magyarország

Microglia-surface Fractalkine receptor mediates chronic stress-induced pain in mice

Barbara Fülöp, Ágnes Hunyady, Nikolett Szentes, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes
Białystok International Medical Congress, 2021, Białystok, Lengyelország (*szekció: 2. helyezés*)

Interleukin-1 mediates chronic restraint stress-induced hyperalgesia in a mouse model

Barbara Fülöp, Ágnes Hunyady, Nikolett Szentes, Viktória Kormos, Ádám Dénes, Nikolett Lénárt, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes

HMAA Hungary Chapter Conference, 2022, Balatonfüred, Magyarország (*Best poster díj*)

Az Interleukin-1 szerepe a krónikus immobilizációs stressz-okozta fájdalom kialakulásában egérmódelben

Barbara Fülöp, Ágnes Hunyady, Nikolett Szentes, Viktória Kormos, Ádám Dénes, Nikolett Lénárt, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes

Magyar Élettani Társaság Konferencia, 2022, Budapest, Magyarország (*Unicam különdíj*)

IL-1 mediates chronic stress-induced hyperalgesia accompanied by microglia and astroglia morphological changes in pain-related brain regions in mice

Barbara Fülöp, Á. Hunyady, N. Bencze, V. Kormos, N. Szentes, Á. Dénes, N. Lénárt, É. Borbély, Z. Helyes

Europen Pain School, 2023, Siena, Olaszország

Fractalkine receptor (CX3CR1) mediates chronic restraint stress-induced pain behavior in a mouse model

Fülöp, Barbara; Dénes, Ádám ; Lénárt, Nikolett ; Kormos, Viktória ; Borbély, Éva ; Helyes, Zsuzsanna

European Psychoneuroimmunology Network Autumn School, 2023, Giessen, Németország

Stress-induced pain is mediated by central nervous system sensitization

Barbrara, Fülöp; Rebeka, Petrák; Júlia, Müller; Viktória, Kormos; Katalin, Rozmer; Ágnes, Király, Ádám Dénes; Éva, Borbély; Zsuzsanna, Helyes
MEDPécs konferencia, 2024, Pécs

Potential analgesic effect of fractalkine receptor (CX3CR1) antagonist in mouse model of chronic stress-induced pain

Barbrara, Fülöp; Viktória, Kormos; Katalin, Rozmer; Ádám Dénes; Nikolett, Lénárt; Éva, Borbély; Zsuzsanna, Helyes

Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (*legjobb poszter díj*) és 8th Hungarian Neuroscience Doctoral Conference 2024, Pécs

Stress-induced mechanical and thermal pain sensitisation mediated through central nervous system cell signalling

Barbara Fülöp, Viktória Kormos, Katalin Rozmer, Ágnes Király, Ádám Dénes, Nikolett Lénárt, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes

9th Conference of the Federation of European Pharmacological Societies (EPHAR), 2024, Athén, Görögország

Stress-induced mechanical and thermal pain sensitisation mediated through NLRP3 inflammasome activation

Barbrara, Fülöp; Viktória, Kormos; Katalin, Rozmer; Ágnes, Király, Ádám Dénes; Nikolett, Lénárt; Éva, Borbély; Zsuzsanna, Helyes

Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, és 8th Hungarian Neuroscience Doctoral Conference 2025, Debrecen

Molecular Mechanisms of stress-induced Pain and new types of Analgesic Drug Candidates in rodents

Barbara Fülöp, Ágnes Király, Rebeka Petrák, Júlia Müller, Viktória Kormos, Katalin Rozmer, Ádám Dénes, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes

HUPHAR Conference, 2025, Mátraháza, Magyarország (*legjobb poszter a szekcióban*)

A stressz által kiváltott fájdalom molekuláris mechanizmusainak feltérképezése, és új típusú fájdalomcsillapító gyógyszerjelöltek vizsgálata rágcsálókban

Fülöp Barbara, Király Ágnes, Petrák Rebeka, Müller Júlia, Kormos Viktória, Rozmer Katalin, Dénes Ádám, Borbély Éva, Helyes Zsuzsanna

37. Országos Tudományos Diákköri Konferencia (OTDK) Orvos- és Egészségtudományi Szekciója: „Roska Tamás Tudományos Előadás”, 2025, Pécs

Stress-induced mechanical and thermal pain sensitisation mediated through central nervous system cell signalling

Barbara Fülöp, Ágnes Király, Viktória Kormos, Rebeka Petrák, Júlia Müller, Katalin Rozmer, Ádám Dénes, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes

European Pain Federation Congress (EFIC 2025 – Pain in Europe XIII), 2025, Lyon, Franciaország

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőimnek, Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának és Dr. Borbély Évának azt a rengeteg segítséget, támogatást, motivációt, amit az itt eltöltött idő alatt, úgy a TDK-s, mint a PhD-s évek során kaptam. Köszönöm, hogy türelemmel és megértéssel egyengették a kutatói utamat és minden alkalommal segítettek és lelkesítettek, hogy kihozzam magamból a legtöbbet, és kiteljesedhessek a kutatásban. Hogy irányt mutattak egy olyan kutatói személyiség felé, amit a továbbiakban is igyekszem követni. Továbbá Dr. Borbély Éva témavezetőmnek külön köszönettel tartozom, hogy a mindennapi munka során, legyen szó oktatási-kutatási vagy akár magánéleti nehézségről, (tényleg) csak egy karnyújtásnyira volt, amikor szükség volt rá.

Köszönettel tartozom Dr. Gaszner Dr. Kormos Viktóriának, akitől az immunhisztokémia elméleti és gyakorlati oldalát és oktatói látásmódot sajátíthattam el. Kutatói lelkesedésével és precizitásával pedig meghatározó alakja volt a PhD tanulmányaimnak.

Köszönöm továbbá szobatársaimnak, és egyben 'dolgozós barátnőimnek', Dr. Borbély Évának, Dr. Hajna Zsófiának és Dr. Tékus Valériának a mindennapokban nyújtott rengeteg segítséget és támogatást, nélkülük ez az út sokkal kevésbé lett volna élvezetes! Köszönettel tartozom továbbá Dr. Hunyady Ágnes, Dr. Király Ágnes, Dr. Kovács-Rozmer Katalin, Santa Csenge, Ács Boglárka, Kepe Eszter, Kiss Tamás, Zöldhegyi Józsefné, Bíró-Sütő Tünde, Szentes Nikolett és Bagoly Teréz kollégáimnak a kísérletek során nyújtott rengeteg segítségért. Köszönöm a segítségét továbbá a KOKI munkatársainak, kollaborátorainknak, Prof. Dénes Ádámnak és Lénárd Nikolettnek, hogy rendelkezésünkre bocsátották a génhiányos egértörzsek tenyészpárjait, segítséget nyújtottak a kéziratok megírása során, illetve, hogy mindig új ötletekkel támogatták a munkánkat. Köszönetemet fejezem ki Dr. Pintér Erikának, a doktori iskola vezetőjének és intézetvezetőnknek, hogy mind a kutató- mind az oktató munkámban támogatott.

Köszönöm egykori kollégámnak és egyben nagynénémnek, Önböli Gyulánának (Dórinak), hogy mind szakmailag, mind 'családilag' tevékenyen részt vett a dolgozatom elkészültében.

Rajnai Tünde kolleganőmnek extra köszönettel és hálával tartozom mind a kísérletekben nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért, és hogy olyan sokszor és olyan boldogan vigyázott a gyermekeimre, hogy én tudjak a PhD-val foglalkozni.

Petrák Rebeka És Müller Júlia diákköröseimnek pedig a lelkes és szorgalmas munkájukért, a jó hangulatért, a sok nevetésért, az együtt töltött mókás, élvezetes időért és a barátságukért tartozom sok-sok hálával. Köszönöm PhD hallgató társaimnak, hogy megoszthattam velük ezt a különleges(en hosszú) időszakot a szakmai életemből.

Továbbá szeretném megköszönni családomnak azt a sok türelmet, önfeláldozó segítséget és hozzájárulását, amely nélkül e dolgozat nem jöhetett volna létre. Férjemnek mind a szakmai mind a személyes támogatást és a türelmet! Az egyre nagyobb türelmet, amit valóban megtartott, ahogy már az esküvői fogadalmában is megígérte.

Továbbá nem tudom eléggé megköszönni a nélkülözhetetlen nagyszülőket, akik segítsége nélkül ez a dolgozat biztosan sokkal később került volna nyomtatásra érdemes állapotba!

Győző, hálás vagyok 😊

Köszönöm a húgomnak, hogy rengeteget segít a gyerekekkel, és hogy Tatai Barbarámmal el/ki-rángattak egy-egy kalandra amikor szükség volt rá.

Végül de nem utolsó sorban pedig hálásan köszönöm gyermekeimnek, egyrészt a végtelen türelmüket és feltétlen szeretetüket, másrészt, hogy megtanítottak ez alatt a pár év alatt, hogy alvás nélkül is lehet élni.

És köszönöm mindenkinek, aki akár gyermekfelügyelettel, akár egy-egy kedves szóval, vagy egy jó kávéval hozzájárult a dolgozat megszületéséhez, de nem sikerült név szerint megemlítenem. Nektek is nagyon hálás vagyok ám! Köszönöm!